

高温登熟による玄米の白濁化メカニズム

誌名	日本醸造協会誌 = Journal of the Brewing Society of Japan
ISSN	09147314
著者名	三ツ井,敏明 金古,堅太郎 鈴木,浩武 佐藤,友紀 椎名,将平
発行元	日本醸造協会
巻/号	112巻5号
巻号補足	
掲載ページ	p. 323-329
発行年月	2017年5月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



高温登熟による玄米の白濁化メカニズム

イネ登熟期の異常高温による米の白濁化、品質低下が大きな問題になっている。一方、酒米には粒の中心に白濁化した部分があり、この心白の存在が酒米の特性に関与しており、そのため一定した高い心白発現が望まれている。高温登熟により、酒米の腹側心白の領域拡大と背白発生が見られ、加えて消化性の低下という酒造適性の変化が見られる。本稿では、分子生理学的視点から米粒の白濁化メカニズムの考察を通し、高温登熟による高温障害を軽減する戦略を探っていただいた。

三ツ井敏明・金古堅太郎・鈴木浩武・佐藤友紀・椎名将平

1. はじめに

IPCC 第5次評価報告書によれば温室効果ガス CO₂ の濃度上昇による地球温暖化は疑う余地はなく、それによって様々な気候変動が引き起こされている。特に夏場の異常高温の影響で、我が国の良食味米・高品質米の生産地でも一等米比率が激減する問題が生じている。一等米比率の低下は米生産農家の収入減にとどまらず、長期的には産地のブランドイメージの毀損を招きかねないことから、今後も予測される夏場の猛暑への対応は喫緊の課題となっている。高温障害に関する知見として、出穂後20日間の日平均気温が26℃を超えると白未熟粒の発生が頻出することが知られている¹⁾。コメにヒビが入る胴割れは受粉後6～10日目の期間に高温ストレスを与えると高頻度で発生する²⁾。様々な品種の高温登熟性が、人工気象室、ビニールハウス、プールや温水掛流し実験圃場などを用いて評価されている³⁾。さらに近年行われたFACE (Free Air CO₂ Enrichment; 開放系大気二酸化炭素増加) 施設⁴⁾を用いた実験から CO₂ 濃度上昇も玄米品質を低下させることが明らかになりつつある。一般に、高 CO₂ 濃度環境は植物にとって好条件として働く。イネにおいても CO₂ 濃度上昇により光合成が促進され澱粉蓄積が増加し、バイオマスおよび玄米収量が増す⁵⁾。他方、高 CO₂ 濃度環境下では気孔が閉じられ蒸散が低下す

るため穂の温度が上昇する。したがって、高 CO₂ 環境が高温障害を助長する可能性は十分考え得る。今後とも大気 CO₂ 濃度の上昇は避けられないことから、将来の稲作農業を見据えた高温・高 CO₂ 濃度の影響に関する研究は社会的要請が極めて強い。

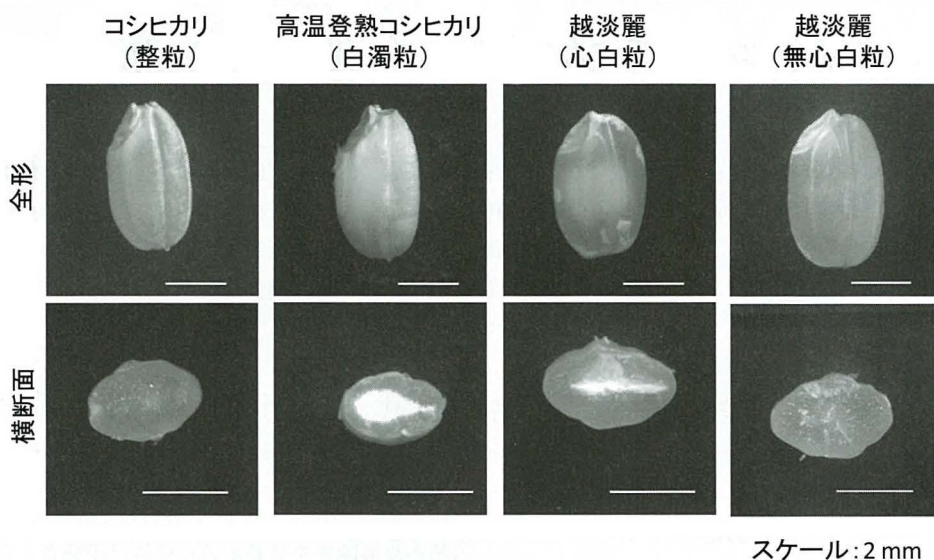
2. 高温登熟と玄米白濁化

うるち米の整粒（完全粒）は豊満で左右・上下均整の取れ、全体が透明で表面に光沢を持つ（第1図、第1列）。うるち米整粒の胚乳細胞を走査電子顕微鏡で観察すると澱粉顆粒は複粒構造を示し、澱粉顆粒間には空隙が殆ど見られない。稲穂が開花・登熟期に異常高温に晒されると白濁粒（第1図、第2列）や胴割れ粒といった不完全粒が多発する^{2,6,7)}。白濁粒の澱粉顆粒構造は丸みを帯びていて、顆粒表面には小孔が見られることもある。一部に澱粉集積の不良な箇所を持つ玄米は、澱粉顆粒間にできた隙間とその顆粒表面の小さな凹み等により光が複雑に屈折そして乱反射することによって、玄米のその部分が白く濁り不透明になる。玄米の白濁部位、すなわち腹部（胚のある面）、背部（胚の反対側の面）、基部（胚の隣接部）、中心部の白濁化が見られるものを、それぞれ腹白、背白、基白、心白粒等と呼んでいる。

酒米は正式には酒造好適米といわれ、大粒で吸水性が良く、タンパク質が少なく、糖化されやすいなどの

Chalking Mechanism of Rice Grain under High Temperature Stress

Toshiaki MITSUI, Kentaro KANEKO, Hiromu SUZUKI, Yuuki SATO, Shouhei SHINA (Laboratory of Biochemistry, Faculty of Agriculture, Niigata University)



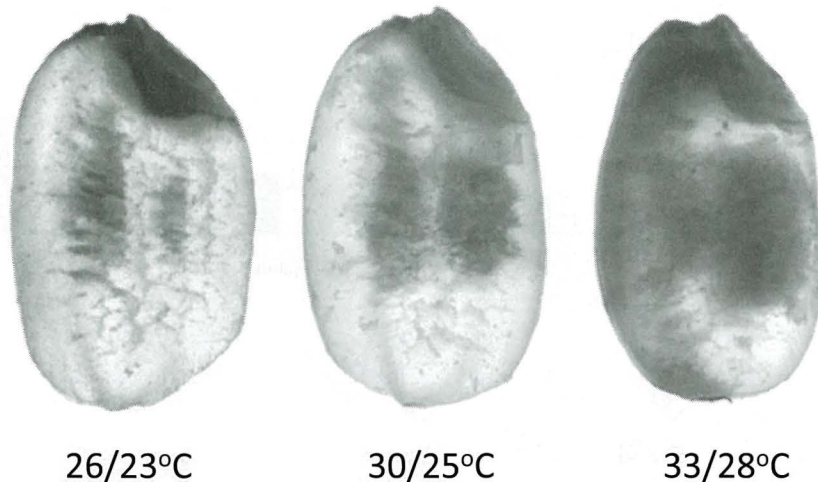
第1図 コシヒカリおよび越淡麗の外観と横断面像

特性を示す。さらに酒米には粒の中心に白濁化した部分があり、この心白の存在が酒米の特性に関与しているとされている。酒米心白は通常の温度条件で発生するが、全ての酒米の粒に心白が存在するわけではなく、その発生率や粒全体に占める心白部位の容積は品種や栽培環境によって異なる。そのため一定した高い心白発現が望まれ、育種学的には心白発現が高い品種の選抜、作物学的には心白発現率を向上させる栽培方法の検討が行われている。米の代表例は、「山田錦」と「五百万石」であるが、「五百万石」の心白が眼状心白の割合が高いのに対して、「山田錦」は線状心白の割合が高い。新潟県で新たな酒米品種として開発された「越淡麗」は、「山田錦」を母、「五百万石」を父とする酒米で、晩生種でタンパク質含有量が低い。「越淡麗」の心白は「山田錦」と同様の線状心白であり（第1図、第3列）、心白の容積はやや小さく、発現率は「五百万石」が60.3%、「越淡麗」が38.7%と明らかに低い^{8,9)}。「越淡麗」は無心白粒（第1図、第4列）も多く見られる品種である。酒米品種の玄米品質と登熟温度との関係について報告がなされている。食用米より大粒の酒米では高温登熟による充実度不足が検査等級の低下をもたらしている^{10,11)}。また、高温登熟は澱粉構造に影響を与え、蒸米アミロペクチンの老化促進による酵素消化性の低下が指摘されている¹²⁾。著者らも酒米「越淡麗」の高温登熟による玄米形質の変化

を観察した。圃場で栽培した稲体を1/5000aワグネルポットに鉢上げし、開花（8月2日）後に、自然光型バイオトロン¹³⁾を用いて、平温区（昼26℃／夜23℃、湿度70%）、高温区1（昼30℃／夜25℃、湿度70%）、あるいは高温区2（昼33℃／夜28℃、湿度70%）で処理した。高温処理により、玄米の腹側心白の領域拡大と背白発生が見られた（第2図）。高温登熟による乳白粒および背白粒の増加は「山田錦」においても報告されている¹¹⁾。

3. 白濁粒プロテオーム

著者らのグループは、様々な環境条件で発生する白濁粒の局所プロテオーム解析を進めている。新潟県三条市で2009年度（登熟期平均温度：24.4℃）と2010年度（登熟平均温度：28.0℃）に収穫されたコシヒカリを用いて玄米白濁部位とそれと同じ整粒の部位のプロテオームを調べた。夏季に猛暑となった2010年度産の白濁粒は2009年度産のそれに比べて粒サイズはそれほど差異がないが、千粒重は8%強の低下が見られた（第1表）¹⁴⁾。整粒については粒重・サイズの年度間差異は殆ど認められなかった。2009整粒、2009白濁粒、2010整粒、2010白濁粒からタンパク質を7M尿素、2Mチオ尿素、3% (w/v) CHAPS、1% (v/v) Triton X-100、10mM DTTを用いて抽出し、エンドペプチターゼLys-Cおよびトリプシンで処理後、



第2図 高温登熟による越淡麗の心白の拡張

圃場から鉢上げした越淡麗をワグネルポット (1/5000a) に移植し、自然光型バイオトロンを用いて開花後から平温区 (昼 26/ 夜 23℃, 湿度 70%), 高温 1 区 (昼 30/ 夜 25℃, 湿度 70%), 高温 2 区 (昼 33/ 夜 28℃, 湿度 70%) で栽培した。収穫した玄米の縦断面を実体顕微鏡で観察した。

第1表 2009 年と 2010 年に新潟県で収穫されたコシヒカリの玄米の千粒重, 粒長, 粒幅, 粒厚

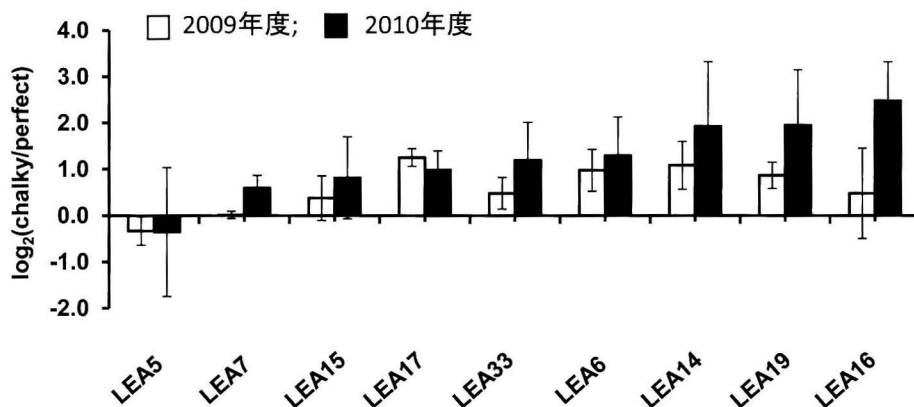
	2009 年		2010 年	
	整粒	白濁粒	整粒	白濁粒
千粒重* (g)	21.62 ^b ± 0.09	16.97 ^c ± 0.16	21.99 ^a ± 0.22	15.61 ^d ± 0.17
粒長** (mm)	4.94 ^b ± 0.10	4.84 ^c ± 0.14	5.09 ^a ± 0.14	4.87 ^c ± 0.23
粒幅** (mm)	2.95 ^a ± 0.07	2.80 ^c ± 0.14	2.88 ^b ± 0.09	2.72 ^d ± 0.12
粒厚** (mm)	2.00 ^a ± 0.06	1.76 ^d ± 0.08	1.96 ^b ± 0.06	1.80 ^c ± 0.07

* $n = 7$; ** $n = 50$; ^{abc,d} $p < 0.05$; 2009 と 2010 年の登熟期平均気温: 24.4 と 28.0℃

生じたペプチドを iTRAQ (isobaric tags for relative and absolute quantification) 標識し、質量分析 (LTQ-Orbitrap XL) に供した。iTRAQ 試薬は複数サンプル間でペプチドを同時に標識し、MS/MS スペクトルから相対定量を可能にするアミン特異的な安定同位体試薬で、タンパク質の網羅的比較定量が可能である。iTRAQ 標識を用いたショットガンプロテオミクス解析では、平温および高温登熟で生じた白濁部位において 61 個のタンパク質において 2 倍以上の発現変動が観察された¹⁵⁾。特徴的なプロテオームの変化としては、高温登熟によって生じた 2010 白濁粒において一連の熱ショックタンパク質 (HSP81-3, HSP70, HSP18.1, HSP17.9, HSP16.9) が顕著に増加していた。熱ショックタンパク質の発現誘導は熱ストレス応答の鍵となるものであり、2010 白濁粒が強く高温ストレスに回答していることを示している。別の見方としては、

2010 整粒が高温ストレスを感知していないとも言える。水ストレス応答に関与することが示唆されている LEA (Late Embryogenesis Abundant) タンパク質についても興味深い挙動が観察された。検出された LEA タンパク質の殆どが白濁粒で、特に、2010 白濁粒での蓄積が見られた (第3図)。2010 整粒と 2009 整粒との比較から、LEA タンパク質の発現誘導は白濁粒特有の現象であることが分かった。また、プロヒビチンは 2010 白濁粒において蓄積していたが、2009 白濁粒では減少していた。プロヒビチンはミトコンドリアシャペロン活性を含む多様な機能を有し^{16,17)}、エネルギー代謝に関する熱耐性に関わるという報告がある¹⁸⁾。

最も特徴的なプロテオームの変化としては澱粉代謝系酵素が挙げられる。2010 白濁粒において澱粉結合型澱粉合成酵素 GBSSI や枝作り酵素 BEIIB が若干減少



第3図 高温登熟による LEA タンパク質の発現変動

新潟県で 2009 年度(登熟期平均温度: 24.4℃)および 2010 年度(登熟期平均温度: 28.0℃)に収穫されたコシヒカリの整粒と白濁粒における種々の LEA タンパク質の量比を調べた。

する一方で、 α -アミラーゼ Amy3E (AmyII-3) の顕著な蓄積が観察された。2009 白濁粒においてもその程度は弱まるが類似の発現変動が見られた。白濁部位における α -アミラーゼタンパク質の増加は特異抗体を用いたイムノプロットングによっても確認された。興味深いことに、平温登熟と高温登熟で生じた白濁部位の α -アミラーゼアイソフォームの発現パターンは異なっていた(第4図)¹⁵⁾。したがって、平温登熟と高温登熟における玄米の白濁化には異なる α -アミラーゼアイソフォームが関与するものと推察される。加えて、米飯特性に影響する α -グルコシダーゼ¹⁹⁾が 2010 白濁粒で顕著に減少していたことは興味深い。

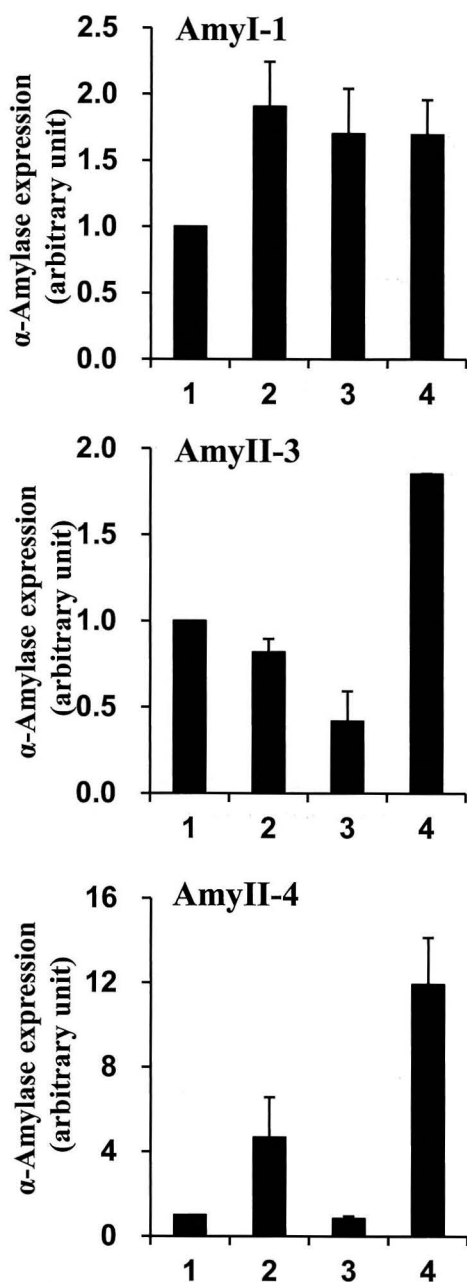
4. 高温登熟酒米の酒造特性への影響

高温登熟によって酒米の吸水性の上昇や消化性の低下という酒造適性の変化が見られる²⁰⁾。奥田ら²¹⁾は、高温登熟により酒米のアミロペクチン鎖長分布の変化を見だし、蒸米の酵素消化性低下の要因として指摘した。また、澱粉消化性とタンパク質消化性の登熟気温との相関関係の類似性も観察されており、これはタンパク質の消化性が澱粉消化性に影響を受けたものと考察されている。著者らのグループも、平温年(2009年)と高温年(2010年)に収穫されたコシヒカリを用いて玄米白濁部位とそれと同じ整粒の部位の澱粉鎖長分布を蛍光標識/HPSEC 分子ふるいクロマトグラフィーおよびキャピラリー電気泳動法を用いて調べた。

高温登熟で生じた玄米白濁部位のアミロース含量は整粒に比べて若干の減少が見られたが、アミロペクチンの鎖長分布には顕著な違いを見いだすことができなかった^{14, 15)}。また、上述の様に、高温登熟によって白濁粒プロテオームは、澱粉代謝関連タンパク質とともに熱ショックタンパク質、LEA タンパク質、レドックス制御タンパク質など、顕著な変化が見られる。加えて、細胞壁関連タンパク質も特徴的な変化が観察されている¹⁵⁾。以上の研究結果は、蒸米の酵素消化性の差異の要因は、澱粉分子構造の変化のみならず、澱粉顆粒を取り巻く他の生体分子の質的・量的変化も関わっている可能性を示唆している。高温登熟による酒米特性の変化に関するプロテオームを含め様々な角度からの詳細な解析は酒米品質管理プロトコルの改善に貢献するものと期待される。

5. 米粒の白濁化メカニズム

高温登熟による胚乳組織における澱粉集積に関わる酵素の機能低下がいくつかの研究グループによって捉えられた。米粒澱粉鎖長分布の変化に関して、登熟温度を 25℃から 30℃に上昇させることによってアミロペクチンの単位鎖 DP6, 11 - 13 が減少し、DP8, 22 - 24, 29 が増加することが観察された²²⁾。さらに、澱粉枝付け酵素(BEIIb)遺伝子の発現量が異なる一連の BEIIb 遺伝子欠損変異体・形質転換体を用いて、その澱粉顆粒形成が調べられ、澱粉顆粒形成異常の主



第4図 高温登熟による α -アミラーゼアイソフォームの発現変動

新潟県で2009年度(登熟期平均温度: 24.4℃)および2010年度(登熟期平均温度: 28.0℃)に収穫されたコシヒカリの整粒と白濁粒における種々の α -アミラーゼアイソフォームの発現量をウェスタンブロッティング法を用いて調べた。1: 整粒(2009), 2: 白濁粒(2009), 3: 整粒(2010), 4: 白濁粒(2010)。

な原因はBEIIbの機能低下であると報告された²³⁾。また、イネの枝付け酵素活性の温度依存性が調べられ、BEIIbの最適温度は25℃であり、温度上昇による失活が最も著しいことが示された²⁴⁾。これらの結果から、高温登熟による枝付け酵素の活性低下が澱粉顆粒構造の変化の原因であると結論された。しかし、近年、澱粉顆粒の形成異常の発生に澱粉分解酵素が関わっていることを示す報告がなされた。浅妻ら²⁵⁾は、 α -アミラーゼ遺伝子AmyI-1 (Amy1A) およびAmyII-4 (Amy3D) を強発現プロモーターを用いて発現させ、登熟適温下で栽培、収穫した玄米の外観品質を調べたところ、白濁粒の多発が見られた。高温登熟による米白濁化に α -アミラーゼの働きが関わっているか否かをさらに検証するため、 α -アミラーゼ発現抑制体を用いた解析が行われた。イネには活性が確認されていないものも含めると10種類の α -アミラーゼ遺伝子が存在する。これらの遺伝子間で塩基配列が高度に保存されている部分によるRNA干渉法を用いて大部分の α -アミラーゼ遺伝子の発現を抑制した遺伝子組換えイネが作出された。いくつかの α -アミラーゼ発現抑制システムを解析したところ、 α -アミラーゼ遺伝子群の発現抑制の程度に応じて、高温登熟による白濁粒の発生が減少することが認められた²⁶⁾。さらに、この白濁粒発生が抑えられる性質は次の世代に受け継がれることも確認された²⁷⁾。

種々の解析結果から、イネ登熟期に高温ストレスを受けると登熟種子中の α -アミラーゼの働きが強まることによって玄米の白濁化が助長されると考えられる。一方で、高温登熟による澱粉合成能の低下が澱粉分子構造そして顆粒形成に影響することも間違いない。しかし、澱粉分子の鎖長構造に顕著な変化が見られない温度条件でも澱粉顆粒の形成異常が観察される。おそらく澱粉合成と分解のバランスが重要であり、相対的に澱粉分解方向に傾くことによって澱粉顆粒の形成異常が起こるものと推察される。玄米の白濁化は、腹部、背部、基部、中心部等に局所的に発生する。背白粒の発生については効果の大きな量的形質遺伝子座(*qWB6*, *qWB9*)が検出されている²⁸⁾が、それぞれの局所発生のメカニズムはまだ良く分かっていない。やはりそれぞれの胚乳組織部位における澱粉合成と分解の機能のバランス異常によるものであろう。イネ登熟種子胚乳組織の澱粉集積は中心部から始まり、周辺

部へと広がる。登熟初期の澱粉代謝酵素の発現制御によって効率的に玄米中心部の白濁化を軽減できるかもしれない。

玄米の白濁化は澱粉代謝系ではない酵素・機能タンパク質の発現異常によって平温条件下でも起こる。例えば、*GLUTELIN PRECURSOR MUTANT6 (GLUP6)*²⁹⁾ や *GLUTELIN PRECURSOR ACCUMULATION 3 (GAP3)*³⁰⁾ などがあげられる。GLUP6 や GAP3 はゴルジ体から液胞への貯蔵タンパク質の輸送に関わる因子である。加えて、イネオートファジー変異体 *Osatg7*³¹⁾ においても白濁粒が生じる。オートファジーは、細胞が持っている細胞内のタンパク質を分解するための仕組みの一つである。このように玄米の白濁化は極めて複雑であり、今後、様々な視点での詳細解析が必要である。

高温耐性に関わる遺伝子を探索するために、著者らのグループは、高温登熟性が異なる品種“ゆきん子舞”と“トドロキワセ”の登熟種子の比較プロテオーム解析を行った。高温登熟性耐性品種のゆきん子舞³²⁾は温水掛け流し処理では全く高温障害は発生しなかった。一方、トドロキワセは高温登熟性が悪く、温水掛け流し処理により整粒率の顕著な低下が見られた。高温区および対照区から採取した開花後4日目の子実より抽出したタンパク質を二次元ゲル電気泳動法を用いて分離し、品種特異的に変動するタンパク質を調査した。トドロキワセでは高温ストレスによってスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) の発現が誘導されたが、高温登熟性の良いゆきん子舞においてはSODが恒常的に強く発現していることが見いだされた。このSODの詳細が調べられ、ゴルジ体やプラスチド等、多様な細胞内局在性を示すMn型SOD (MSD1) であることが分かった³³⁾。SODは、スーパーオキシドアニオン (O_2^-) から酸素と過酸化水素 (H_2O_2) に分解する酵素で、タバコ、ジャガイモ、サトウダイコン、プラム、ワタ、アルファルファをはじめ様々な植物においてストレス抵抗性に関与することが報告されている。イネにおいては、酵母やエンドウマメのミトコンドリアMn型SODを葉緑体に発現・局在化させると塩ストレス耐性や酸化ストレス耐性の改善が観察された^{34, 35)}。このような知見から、MSD1が高温登熟耐性に関わる因子であると推測した。予想通り、MSD1の発現を恒常的に強めると高温登熟耐性が向上し、登熟

種子胚乳特異的にMSD1発現を弱めると高温ストレスの感受性が増すことが確認された³³⁾。MSD1を強発現するイネでは野生型に比べて高温ストレスによって数多くの活性酸素消去系の酵素タンパク質やストレス応答タンパク質の誘導が格段に高まっており、このことが高温登熟耐性をもたらしていると考えられた。なぜ、MSD1の高い発現によってこのような誘導が活発になるのか。おそらく、MSD1によって生成される H_2O_2 がシグナル分子として働いているのであろう。我々は、開花時の H_2O_2 ブライミング処理によって高温登熟耐性が誘導されることを確認している。高温登熟性に対するMSD1の詳細な作用機作についてはさらなる研究が必要であることは言うまでもない。

6. おわりに

玄米の白濁化メカニズムは、最終的には澱粉の合成・分解バランス異常による澱粉顆粒の形成不全によるものがあるが、様々な因子に関わり、そして多様な経路が複雑に絡み合っており、その詳細は依然として不明な点が多い。澱粉集積の誘導期である開花から登熟期初期の間は高温ストレスの感受性が高く、この期間に異常高温に晒されると玄米白濁や胴割れの発生が著しく増える。確かに、登熟期初期の高温ストレス処理によって子実プロテオームは大きく変化しており、登熟のためのプログラムの乱れが生じ、修復できずに登熟・成熟が進むために澱粉顆粒の形成不全が起こるのかもしれない。また、高温ストレスを受けた同じイネ個体でも白濁粒と整粒が収穫される。上述の様に、整粒では熱ショックタンパク質や水ストレス応答タンパク質の変動が小さく、高温ストレスを感じていないかあるいはプログラムの乱れが早期に修復されたものと考えられる。高温ストレス下にスーパーオキシドジスムターゼによって生成される H_2O_2 は高温応答シグナルとして働き、早期にストレス応答タンパク質を誘導し、澱粉の合成・分解のバランス異常を回避する方向に導くものと思われる。著者らは、 H_2O_2 が高温登熟性の鍵因子の1つであり、強い高温ストレスに晒される前の H_2O_2 濃度上昇誘導が高温登熟性改善の戦略となり得ると考えている。酒米でも同様な高温登熟障害が起こっていると考えられるが、酒米特有の高温障害・白濁化メカニズムもあることから酒米を用いた徹底した研究が必要であらう。

文 献

- 1) 小葉田亨, 植向直哉, 稲村達也, 加賀田恒: 日作記, **73**, 315-322 (2004)
- 2) 長田健二, 滝田正, 吉永悟志, 寺島一男, 福田あかり: 日作記, **73**, 336-342 (2004)
- 3) 石崎和彦: 農業技術, **60**, 458-461 (2005)
- 4) H. Nakamura, T. Tokida, M. Yoshimoto, H. Sakai, M. Fukuoka, T. Hasegawa: *J. Agric. Meteorol.*, **68**, 15-23 (2012)
- 5) A. Makino, T. Mae: *Plant Cell Physiol.*, **40**, 999-1006 (1999)
- 6) T. Tashiro, I. F. Wardlaw: *Aust. J. Agric. Res.*, **42**, 485-496 (1991)
- 7) 森田敏: 農業技術, **60**, 442-446 (2005)
- 8) 小林和幸, 金田智, 松井崇晃, 石崎和彦, 鍋倉義仁, 渡邊健一: 育種学研究, **8**, 55-61 (2006)
- 9) 石崎和彦ほか: 新潟県農業総合研究所研究報告第9号, 81-87 (2008)
- 10) 佐々木良治ほか: 近畿中国四国農業研究センター研究資料, **9**, 41-146 (2012)
- 11) 池上 勝, 藤本啓之, 小河拓也, 三好昭宏, 矢野義昭, 土田利一, 平川嘉一郎: 日作紀, **84**, 295-302 (2015)
- 12) 奥田将生: 応用糖質科学, **4**, 193-201 (2014)
- 13) <http://www.agr.niigata-u.ac.jp/~nkariwa/page12/page12.html>
- 14) K. Tsutsui, K. Kaneko, I. Hanashiro, K. Nishinari, T. Mitsui: *J. Appl. Glycosci.*, **60**, 61-67 (2013)
- 15) K. Kaneko, M. Sasaki, N. Kuribayashi, H. Suzuki, Y. Sasuga, T. Shiraya, T. Inomata, K. Itoh, M. Baslam, T. Mitsui: *Rice*, **9**, 26 (2016)
- 16) T. Tatsuta, K. Model, T. Langer: *Mol. Biol. Cell*, **16**, 248-259 (2005)
- 17) O. Van Aken, B. Zhang, C. Carrie, V. Uggalla, E. Paynter, E. Giraud, J. Whelan: *Mol. Plant*, **2**, 1310-1324 (2009)
- 18) Q. Zeng, S. Y. Dong, L. X. Wu, H. Li, Z. J. Sun, J. B. Li, H. X. Jiang, Z. H. Chen, Q. B. Wang, W. W. Chen: *PLoS One*, **8**, e53612, (2013)
- 19) M. Tsuyokubo, T. Ookura, S. Tsukui, T. Mitsui, M. Kasai: *Food Sci. Technol. Res.*, **18**, 659-666 (2012)
- 20) 小関卓也, 奥田将生, 米原由希, 八田一隆, 岩田博, 荒巻功, 橋爪克己: 醸協, **99**, 591-596 (2004)
- 21) 奥田将生, 橋爪克己, 沼田美代子, 上用みどり, 後藤奈美, 三上重明: 醸協, **104**, 699-711 (2009)
- 22) N. Inouchi, H. Ando, M. Asaoka, K. Okuno, H. Fuwa: *Starch*, **52**, 8-12 (2000)
- 23) N. Tanaka, N. Fujita, A. Nishi, H. Satoh, Y. Hosaka, M. Ugaki, S. Kawasaki, Y. Nakamura: *Plant Biotechnol. J.*, **2**, 507-516 (2004)
- 24) T. Ohdan, T. Sawada, Y. Nakamura: *J. Appl. Glycosci.*, **58**, 19-26 (2011)
- 25) S. Asatsuma, C. Sawada, A. Kitajima, T. Asakura, T. Mitsui: *J. Appl. Glycosci.*, **53**, 187-192 (2006)
- 26) M. Hakata, M. Kuroda, T. Miyashita, T. Yamaguchi, M. Kojima, H. Sakakibara, T. Mitsui, H. Yamakawa: *Plant Biotechnol. J.*, **10**, 1110-1117 (2012)
- 27) 山川博幹, 羽方誠: 化学と生物, **49**, 624-629 (2011)
- 28) A. Kobayashi, J. Sonoda, K. Sugimoto, M. Kondo, N. Iwasawa, T. Hayashi, K. Tomita, M. Yano, T. Shimizu: *Breed. Sci.*, **63**, 339-346 (2013)
- 29) M. Fukuda, et al.: *Plant Physiol.*, **162**, 663-674 (2013)
- 30) Y. Ren, Y. Wang, F. Liu, K. Zhou, Y. Ding, F. Zhou, Y. Wang, K. Liu, L. Gan, W. Ma, et al.: *Plant Cell*, **26**, 410-425 (2014)
- 31) T. Kurusu, et al.: *Autophagy*, **10**, 878-888 (2014)
- 32) 農林水産省「平成22年度高温適応技術レポート」
- 33) T. Shiraya, T. Mori, T. Mruyama, M. Sasaki, T. Takamatsu, K. Oikawa, K. Kaneko, K. Itoh, H. Ichikawa, T. Mitsui: *Plant Biotechnol. J.*, **13**, 1251-1263 (2015)
- 34) M. Faize, et al.: *J. Exp. Bot.*, **62**, 2599-2613 (2011)
- 35) A. Perl, et al.: *Theor. Appl. Genet.*, **85**, 568-576 (1993)